



SVEUČILIŠTE U ZAGREBU
STOMATOLOŠKI FAKULTET

Sandra Veličan

ANTIMIKROBNA FOTODINAMSKA TERAPIJA U PARODONTOLOGIJI

Diplomski rad

Zagreb, 2017.

Rad je ostvaren na Stomatološkom fakultetu u Zagrebu, Zavod za parodontologiju
Mentor rada: Domagoj Vračić, dr. sc., Stomatološki fakultet u Zagrebu
Lektor hrvatskog jezika: Izeta Colarić, prof. hrvatskog jezika i književnosti
Lektor engleskog jezika: Maja Blažun, prof. engleskog i talijanskog jezika i književnosti

Sastav Povjerenstva za obranu diplomskog rada:

1. dr. sc. Domagoj Vračić
2. dr. sc. Ivan Puhar
3. prof. dr. sc. Robert Čelić

Datum obrane rada: 22.9.2017.

Rad sadrži: 32 stranice
2 tablice
3 slike
CD

Osim ako nije drukčije navedeno, sve ilustracije (tablice, slike i dr.) u radu su izvorni doprinos autora diplomskog rada. Autor je odgovoran za pribavljanje dopuštenja za korištenje ilustracija koje nisu njegov izvorni doprinos, kao i za sve eventualne posljedice koje mogu nastati zbog nedopuštenog preuzimanja ilustracija odnosno propusta u navođenju njihovog podrijetla.

Antimikrobna fotodinamska terapija u parodontologiji

Sažetak

Mehanička terapija (SRP) parodontnih bolesti nerijetko je potpomognuta antibioticima i antisepticima koji mogu imati štetne posljedice za pacijenta i uzrokovati bakterijsku rezistenciju. Antimikrobna fotodinamska terapija (aPDT) je neinvazivna fotokemoterapija koja ubija bakterije i njihove toksine te predstavlja moguću alternativu antibioticima.

Djelovanje aPDT-a se temelji na reakciji fotoaktivatora i izvora svjetla. Aktivirani fotoaktivator se spaja s molekularnim kisikom te nastaje atomarni kisik koji direktno uništava DNA i stijenku mikroorganizama. Zbog izravnog djelovanja, mikroorganizmi na ovakvu vrstu terapije ne mogu razviti rezistenciju. Također, zbog sposobnosti fotoaktivatora da prođe epitelnu barijeru, aPDT može uspješno djelovati na mikroorganizme koji koloniziraju vezivno tkivo.

Od kad je, početkom prošlog stoljeća otkriven utjecaj metilenskog modrila i svjetla na smanjenje pokretljivosti papučice, interes za antimikrobno svojstvo fotodinamske terapije se s godinama samo povećavao. Od početnih *in vitro* istraživanja o samom mehanizmu djelovanja, do današnjih kliničkih studija o mogućnostima liječenja različitih parodontnih stanja i bolesti aPDT-om, proveden je određen broj istraživanja s različitim rezultatima. Dok se u liječenju kroničnog parodontitisa aPDT iskazao kao obećavajuća pomoćna terapija, rezultati istraživanja o liječenju agresivnog parodontitisa razlikuju se među raznim skupinama autora, no postoji određeni konsenzus oko povoljnog kratkoročnog učinka.

S obzirom na kontradiktornost rezultata i relativno mali broj provedenih kliničkih istraživanja, trebalo bi pričekati na rezultate dodatnih istraživanja na većem broju pacijenata.

Ključne riječi: antimikrobna fotodinamska terapija; aPDT; kronični parodontitis; agresivni parodontitis; atomarni kisik;

Antimicrobial photodynamic therapy as a therapy in the treatment of periodontitis

Summary

In periodontology, scaling and root planning is often assisted by antibiotics and antiseptics that can cause a number of adverse effects and bacterial resistance. APDT is a non-invasive phototherapy that kills bacteria and their toxins and it is a possible alternative to antibiotics.

The action of aPDT is based on the reaction of the photosensitizer and light sources. The activated photosensitizer binds with molecular oxygen producing the “singlet” oxygen that directly destroys the DNA and the wall of microorganisms. Due to its direct action, microorganisms cannot develop resistance to this type of therapy. Also, because of the ability of the photoactivators to pass the epithelial barrier, aPDT can successfully reduce the microorganisms that colonize the connective tissue.

Since the discovery of the influence of methylene blue and light on the reduction of pedal mobility, at the beginning of the last century, the interest in aPDT has only increased. From the initial *in vitro* researches on the mechanism of action, until today’s clinical trials on the possibilities of treating different periodontal conditions and diseases, a number of researches about aPDT with different results were conducted. While aPDT has been shown as promising adjunctive therapy in the treatment of chronic periodontitis, the results of the treatment of aggressive periodontitis are not the same in all studies, but there is a certain consensus about the favorable short-term effect.

Given the contradiction of the results, we should wait for more studies on a larger number of patients.

Key words: antimicrobial photodynamic therapy; aPDT; chronic periodontitis; aggressive periodontitis; singlet oxygen;

SADRŽAJ

1. Uvod.....	1
2. Antimikrobna fotodinamska terapija (aPDT).....	5
2.1. Fotoaktivatori.....	8
2.2. Izvori svjetla.....	10
2.2.1. Koherentni izvori svjetla.....	11
2.2.2. Nekohrentni izvori svjetla.....	11
2.3. Primjena aPDT u stomatologiji.....	12
2.3.1. Primjena aPDT u parodontologiji.....	13
2.3.1.1. <i>In vitro</i> studije.....	13
2.3.1.2. <i>In vivo</i> studije.....	14
2.3.1.3. Kronični parodontitis.....	16
2.3.1.4. Agresivni parodontitis.....	17
2.4. Trenutno dostupni sustavi u Hrvatskoj.....	18
3. Rasprava.....	19
4. Zaključak.....	22
5. Literatura.....	24
6. Životopis.....	32

Popis skraćenica

SRP (eng. *scaling and root planing*) - struganje i poliranje površine korijena

A. actinomycetemcomitans - *Aggregatibacter actinomycetemcomitans*

P. gingivalis - *Porphyromonas gingivalis*

MIC (eng. *minimum inhibitory concentration*) - minimalna koncentracija potrebna za inhibiciju

aPDT - antimikrobna fotodinamska terapija

DNA - deoksiribonukleinska kiselina

PS (eng. *Photosensitizer*) - fotoaktivator

MB - metilensko modrilo

TBO - toluidinsko modrilo O

F. nucleatum - *Fusobacterium nucleatum*

LED (eng. *light emitting diodes*) - svjetleća dioda

P. intermedia - *Prevotella intermedia*

GBR (eng. *guided bone regeneration*) - vođena regeneracija kosti

BOP (eng. *bleeding on probing*) - krvarenje pri sondiranju

PD (eng. *pocket depth*) - dubina sondiranja

CAL (eng. *clinical attachment level*) - razina kliničkog pričvrstka

1. UVOD

Parodontne bolesti su, uz dentalni karijes, najčešća oboljenja usne šupljine u svijetu (1). Glavni uzročnik parodontnih bolesti je perzistirajući dentalni plak u kojem se koloniziraju parodontopatogene bakterije, invadiraju meka tkiva te dovode do ireverzibilnog oštećenja potpornog aparata zuba i naposljetku gubitka samog zuba.

Inicijalna parodontna terapija sastoji se od mehaničkog uklanjanja supra- i subgingivalnih naslaga koje je ponekad potpomognuto dodatnom farmakoterapijom. Mehaničko čišćenje struganjem i poliranjem korijenskih površina (SRP, *eng. scaling and root planing*) podrazumijeva uklanjanje plaka i zubnog kamenca s površine zuba, odstranjivanje slojeva cementa koji sadrže endotoksine te poliranje korjenova. Poznato je da *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* (*A. actinomycetemcomitans*.) i *Porphyromonas gingivalis* (*P. gingivalis*) imaju sposobnost invazije mekih tkiva te ostaju u njima i nakon klasičnog mehaničkog čišćenja i uzrokuju reinfekciju parodontnih džepova (2, 3). Bakterijski rezervoari se mogu nalaziti u cijeloj usnoj šupljini (jezik, tonzile, teško dostupne furkacije zubi). Zbog toga se nerijetko u liječenje parodontitisa uključuje i dodatna eliminacija bakterija, antisepticima i antibioticima.

Rasprostranjena uporaba antibiotika dovodi do sve većih problema i nuspojava vezanih za pacijenta, a i za bakterije. Uzimanje antibiotika može izazvati cijeli niz nuspojava: alergije uzrokovane penicilinom, prolazak tetraciklina u kosti i zube, artropatije inducirane kinolonima, glavobolju, vrtoglavicu, metalni okus ili intoleranciju alkohola uzrokovanu metronidazolom (4). Isto tako, vrlo bitan čimbenik je suradnja pacijenata i njihova dosljednost u trošenju antibiotika. Problem se dodatno pogoršava čimbenicima društvene prirode kao što su neprikladno ili prekomjerno propisivanje antibiotika, široko rasprostranjeno dodavanje antibiotika u stočnu hranu, te sve češći prijenos mikroorganizama uzrokovan globalnim kretanjem ljudi. Frekvencija pojave sojeva rezistentnih na antibiotike procijenjena je usporedno u Nizozemskoj (niska učestalost) u kojoj je ograničena primjena antibiotika, i Španjolskoj (visoka učestalost) s prekomjernom uporabom antibiotika (5). Sulkusne koncentracije antibiotika mogu ostati ispod minimalne inhibicijske koncentracije (MIC- *eng. minimum inhibitory concentration*) ciljnih organizama. Osim toga, matriks biofilma stvara ekološku nišu koja učinkovito štiti bakterije od djelovanja antibiotika (6, 7).

S druge strane, tijekom godina primjenjivanja antibiotika, bakterije su razvile izvrsnu sposobnost rezistentnosti i sve su otpornije na sredstva koja su prije uspješno djelovala (8, 9).

Najčešće upotrebljavani antiseptik u parodontologiji je klorheksidin-glukonat. On ima dobra adherirajuća svojstva pa se polako otpušta sa površina zuba, a djeluje na gram-pozitivne, gram-negativne, aerobne i anaerobne bakterije i na gljivice (10). U nižim dozama on posjeduje bakteriostatski učinak vežući se za negativno nabijenu membranu bakterija i inaktivirajući je, dok pri višim dozama uništava njihove stijenke te kao takav djeluje baktericidno. No, klorheksidin ima negativne nuspojave poput obojenja zuba i restaurativnih nadomjestaka, promjenu ili gubitak osjeta okusa, oteknuće žlijezda slinovnica, pa čak i ulceracije mukoze (11). Anionski surfaktanti, koje nalazimo u pastama za zube, inaktiviraju klorheksidin (12) te u propisivanju vodica za ispiranje usta na bazi klorheksidina moramo računati na pacijentovu suradnju i pravilnu primjenu.

Zbog mnogih negativnih strana navedenih farmakoloških terapija, teži se pronalasku alternativnih metoda za eliminaciju mikroorganizama. Jedan od mogućih alternativnih pristupa je, u pojedinim slučajevima, antimikrobna fotodinamska terapija (aPDT) (13). Antimikrobna fotodinamska terapija, znana kao i fototerapija i fotokemoterapija, je neinvazivna terapija parodontnih džepova čija je svrha uklanjanje bakterija i njihovih endotoksina, virusa, gljivica i protozoa. Prednost ovakve metode liječenja je lokalna primjena agensa na koji mikroorganizmi ne stvaraju rezistenciju, ne uzrokuje nepoželjne reakcije organizma, te se postupak može ponavljati do željenih rezultata bez štetnih posljedica.

Drevni Egipćani, Indijske i Kineske civilizacije koristile su svjetlost u terapiji psorijaze, rahitisa, vitiliga i raka kože. 1900. godine, njemački student medicine Oskar Raab proučavao je papučicu pod mikroskopom i primijetio da u prisustvu određenih fotoaktivatora aktiviranih svjetlošću, dolazi do produkcije atomarnog kisika, te papučica postupno gubi pokretljivost i nije se u stanju dijeliti. Reakcija je dobila ime „Fotodinamska akcija“ (14) i smatra se začetkom antimikrobne fotodinamske terapije. Nadalje, Niels Finsen, danski student medicine, bolovao je od tada nedijagnosticirane Niemann-Pickove demencije. Simptomi poput umora i slabosti su ga potaknuli da isproba nekonvencionalnu terapiju sunčevom svjetlosti. Napokon je 1893.godine osmislio liječenje velikih boginja pomoću crvenog svjetla, 1895. lupusa vulgarisa, a nakon nekoliko godina i tuberkuloze.

1903.godine je nagrađen Nobelovom nagradom za svoj rad fototerapijom (15). Thomas Dougherty i suradnici su 1978. godine, u Institutu za tumore u New Yorku, klinički testirali PDT na 113 kožnih i potkožnih malignih tumora, od kojih je 111 bilježilo djelomično ili potpuno povlačenje (16). 1982. John Toth je terapiju imenovao fotodinamskom terapijom. 1986. Dougherty je osnovao Međunarodnu fotodinamsku organizaciju (IPA) (17). Otkrićem i razvojem antibiotika, istraživanja o antimikrobnom efektu fotodinamske terapije jenjavaju, ali se razvitkom bakterijskih rezistencija interes za aPDT povećava.

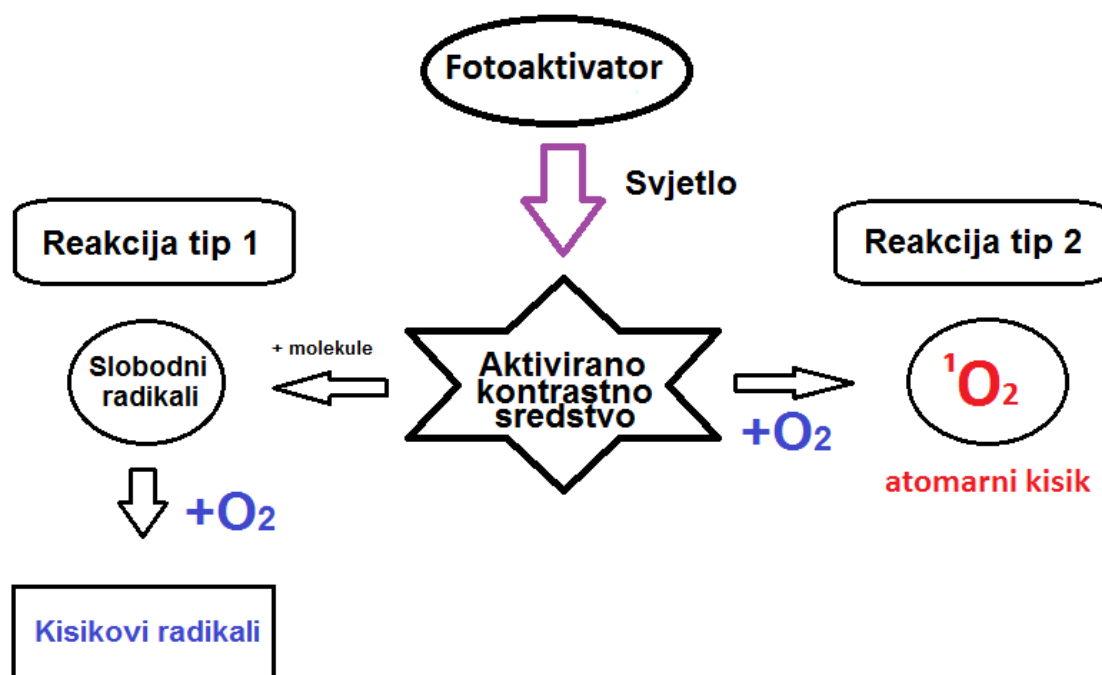
Svrha ovog rada je objasniti djelovanje aPDT-a i kratkim pregledom nekoliko objavljenih istraživanja procijeniti njenu uspješnost kao pomoćno sredstvo u liječenju kroničnog i agresivnog parodontitisa.

2. ANTIMIKROBNA FOTODINAMSKA TERAPIJA

aPDT je terapija bazirana na fotokemijskoj reakciji koja uključuje fotoaktivator (PS), izvor svjetlosti i molekularni kisik (slika 1). PS se veže za ciljne stanice te se potom aktivira svjetlošću odgovarajuće valne duljine i prelazi iz osnovnog u više energetske stanje, tzv. „*singlet*“ stanje. Iz tog stanja, PS može ići u dva smjera: vratiti se u osnovno energetske stanje uz emitiranje fluorescencije, ili prijeći u stabilniji oblik, „*triplet*“ stanje. Ono u „*triplet*“ stanju može ući u dvije različite reakcije s biomolekulama – tip 1 i tip 2.

Tip 1 - zbog nesparenog elektrona, fotoaktivator se reakcijom oksidacije brzo i nepredvidivo spaja s bilo kojom prostorno bliskom molekulom proteina, lipida ili ugljikohidrata uslijed čega nastaju slobodni radikali. Ti radikali su jako reaktivni i spajaju se s endogenim molekularnim kisikom pa nastaju kisikovi radikali (superoksid, hidrogen peroksid, hidroksilni radikali) koji narušavaju integritet staničnih membrana i kao takvi djeluju baktericidno.

Tip 2 - fotoaktivator reagira s molekularnim kisikom, a kao produkt nastaje atomarni kisik (eng. *singlet oxygen*). Atomarni kisik je visoko reaktivan, energetski pobuđen oblik molekularnog kisika i najodgovorniji je za oštećenje ciljnih stanica. On reagira s mnogim biološkim molekulama kao što su lipidi, proteini i nukleinske kiseline. Poluvrijeme života atomarnog kisika je kratko (0.04 μ s), a radijus djelovanja samo 0.02 μ m. Stoga se reakcija odvija na uskom području, što dovodi do lokaliziranog odgovora bez utjecaja na udaljene stanice ili organe (18, 19).



Slika 1. Prikaz fotokemijske reakcije.

aPDT dovodi do uništenja deoksiribonukleinske kiseline (DNA) i oštećenja citoplazmatske membrane, zbog čega dolazi do inaktivacije membranskih transportnih sustava ili izlaska staničnog sadržaja (20). Kisikovi radikali i atomarni kisik uzrokuju inhibiciju enzimskih sustava, aglutinaciju proteina te lipidnu peroksidaciju, lančanu reakciju nezasićenih masnih kiselina i slobodnih radikala koja uzrokuje oštećenje stanične stijenke (21). Gvanin je nukleinska baza koja je najosjetljivija na oksidaciju kisikovim radikalima, te uzrokuje cijepanje dvostrukog ili jednostrukog DNA lanca (22).

Fotodinamskom terapijom se ne ubijaju samo bakterije, već se uništavaju i njihovi endotoksini, poput lipopolisaharida. Lipopolisaharidi uništeni aPDT-om ne stimuliraju produkciju upalnih citokina, nego im se direktno smanjuje biološka aktivnost. Također, fotoaktivator penetrira kroz epitel u vezivo te kao takav može uspješno djelovati na mikroorganizme i njihove produkte koji prođu epitelnu barijeru i koloniziraju se u vezivnom tkivu (23).

Za vrijeme aPDT-a, uništavaju se samo stanice koje akumuliraju PS i do kojih prođe svjetlost, stoga se aPDT može ponavljati i nekoliko puta bez rizika da uzrokuje kumulativnu toksičnost (24).

Prednosti aPDT-a su:

- a) Široki spektar antimikrobnog djelovanja, uključujući bakterije, viruse, parazite, kvasce, gljivice.
- b) Vrlo male mogućnosti razvitka fotorezistentnih sojeva čak i nakon višestrukog ponavljanja terapije.
- c) Fotoaktivatori se dizajniraju da imaju visoku selektivnost za stijenke mikroorganizama, a ne za stanice domaćina.
- d) aPDT uništava mikroorganizme u nekoliko minuta, dok antibioticima treba i do nekoliko dana.
- e) Zbog topikalne primjene fotoaktivatora, aPDT je efikasna i u slabije prokrvljenim područjima do kojih antibiotici ne mogu doći.
- f) Također, aPDT se može primjenjivati i bez antibiograma i kultivacije, zahvaljujući svom širokom spektru djelovanja, što štedi vrijeme i novac.
- g) Zbog svog načina djelovanja, aPDT nema kontraindikacija (osim alergija na fotoaktivatore) u primjeni i može se koristiti u liječenju trudnica, djece, starijih, dijabetičara, imunokomprimiranih pacijenata (25).

2.1. Fotoaktivatori

Idealni fotoaktivator bi se trebao aktivirati samo u prisutnosti svjetla, a u tami ostati neaktivan, što duže se zadržati u pobuđenom „*triplet*“ stanju i u reakciji s kisikom stvoriti što veće količine kisikovih radikala i atomarnog kisika. Trebao bi imati visok afinitet za specifične mikroorganizme, brzo se vezati za njih, a prema stanicama domaćina ne bi smio imati afinitet kako bi se smanjila mogućnost mutagenog učinka. Vršak apsorpcije bi mu trebao biti između 600 i 800 nm (valne duljine ispod 600 nm imaju slabu penetraciju kroz tkivo, a iznad 800 nm fotoni gube energiju potrebnu za ekscitaciju neaktiviranog bojila). Kako bi se mogle liječiti infekcije za koje se smatra da su uzrokovane različitim vrstama mikroorganizama, PS bi trebao imati širok spektar djelovanja na bakterije, gljivice,

parazite i viruse, te bi trebao biti brzo eliminiran iz tijela domaćina kako bi se smanjile sistemske fototoksične reakcije (26, 27).

90-ih godina je otkriveno da PS s kationskim nabojem uspješno eliminira gram-pozitivne i gram-negativne bakterije vežući se za njihove negativno nabijene stanične membrane (28, 29, 30). Gram-negativne bakterije su negativno nabijene zbog lipopolisaharida u staničnoj stijenci, a gram-pozitivne zbog teikoične kiseline (31).

Idealni bi PS za gram-pozitivne bakterije trebao imati brojne pozitivne naboje kako bi se pojačalo vezanje za bakterijsku negativno nabijenu membranu, a za gram-negativne bi, uz pozitivan naboj, trebao biti i liposolubiln kako bi mogao proći kroz bakterijsku lipidnu staničnu stijenku.

Gljive su najteža meta za PS jer su njihove stanice obavijene čvrstom staničnom stijenkom sačinjenu od hitina, glukana i lipoproteina. PS za terapiju gljiva mora biti djelomično hidrofoban kako bi se vezao za proteine i lipide u staničnoj stijenci (32).

Glavna meta viralnog aPDT-a je kapsida, proteinska ljuska koja obavija i štiti nukleinsku kiselinu, a neki virusi imaju i dodatnu lipidnu ovojnicu. Znači, PS za uništenje virusa bi morao biti hidrofoban i liposolubiln (33).

Fotoaktivatori koji se koriste u aPDT-u dijele se u fotoaktivatore s porfirinskom bazom (tetrapiroli) i bez porfirinske baze. Prvu skupinu dijelimo na bojila prve i druge generacije (34).

1. Tetrapiroli

a) Prva generacija

- Derivati hematoporfirina
- Photofrin ®

b) Druga generacija

- Klorini (klorin e6, chlorin-e6-polylysine)
- Bakterioklorini
- Ftalocijanini

2. Sintetička bojila

- a) Fenotiazini (metilensko modriilo, toluidinsko modriilo O)
- b) Ksanteni (eritrozina, Rose Bengal)
- c) Fenaleni
- d) Cijanini

3. Organska bojila

- a) Kurkumin
- b) Riboflavin

Metilenska (MM) i toluidinska modrila O (TMO) su se dokazala učinkovita u ubijanju *P. gingivalis*, *Fusobacterium nucleatum* (*F. nucleatum*), *A. actinomycetemcomitans* (35), *S. mutans*, *S. sobrinus*, *Lactobacillus casei*, *Actinomyces viscosus* (36) i *Candida albicans* (37). Kurkumin ima značajnu ulogu protiv *Candida albicans*, *C. tropicalis* i *C. glabrata* (38), a Rose Bengal protiv *Enterococcus faecalis* (39). Upravo su to fotoaktivatori koji se najčešće koriste u aPDT-u (34).

2.2. Izvori svjetla

Nakon aplikacije PS-a i njegovog vezanja za mikroorganizme, aktiviramo ga svjetlošću čija jačina odgovara vršku apsorpcije primijenjenog fotoaktivatora. Vrlo je važno izabrati odgovarajući izvor svjetla kako bi se osiguralo dovoljno duboko prodiranje u tkivo i uspješna aktivacija PS-a.

U aPDT-u se koriste različite valne duljine svjetlosti, a izvori se dijele na koherentne (laseri) i nekoherentne (LED (eng. *light emitting diodes*) svjetiljke).

2.2.1. Koherentni izvori svjetlosti (slika 2)

Laseri proizvode intenzivna koherentna elektromagnetska polja koja se protežu od infracrvenog do ultraljubičastog zračenja. Boja svjetlosti ovisi o valnoj duljini, kraće valne duljine (200–400 nm) emitiraju ljubičastu svjetlost, a dulje (700–1500 nm) crvenu. Emitirano lasersko svjetlo karakteriziraju elektromagnetski valovi istih valnih duljina, smjera, frekvencije i boje, što omogućava maksimalnu učinkovitost ako se valna dužina lasera poklapa s vrškom apsorpcije fotoaktivatora, a zbog emitiranja zračenja visoke energije skraćuje se vrijeme pojedine ekspozicije (40).

U aPDT-u koristimo lasere niske snage, 30-100 mW, i valne duljine između 630 i 900 nm (41). U tu svrhu se koriste helij-neon laseri (633 nm, crveno svjetlo), Nd:YAG laser (353 nm, ultraljubičasto svjetlo) i diodni laseri (635-980 nm, infracrveno svjetlo). Diodni laseri funkcioniraju slično kao svjetleće diode, samo što se u laseru nosači (elektroni i šupljine) nalaze u intrinzičnoj regiji, regiji između P i N semikonduktora.

Nedostaci lasera su visoka cijena, česti kvarovi i zahtjevno održavanje (42).

2.2.2. Nekoherentni izvori svjetlosti (slika 3)

Svjetleća dioda ili LED je poluvodički elektronički element koji električni signal pretvara u optički, odnosno svjetlost. Kada se primjeni odgovarajući napon na diodu, elektroni iz N semikonduktora se spajaju s elektronskim šupljinama iz P semikonduktora unutar uređaja i oslobađaju energiju u obliku fotona. Taj efekt se naziva elektroluminiscencija (43).

LED lampe mogu emitirati tri boje vidljivog svjetla: crvenu (610-760 nm), zelenu (500-570 nm) i plavu (450-600 nm), te infracrvenu svjetlost (>760 nm). Iako svjetlost koju diode emitiraju nije monokromatska kao što je to slučaj kod lasera, emitiraju svjetlost visokog intenziteta i širokog spektra valnih duljina, što omogućava korištenje različitih fotoaktivatora.

Njihova prednost je veliko polje obasjavanja, niža cijena i manja veličina uređaja. Glavni nedostatak ovih lampi je otežano usmjeravanje svjetla na ciljno tkivo zbog širokog spektra valnih duljina, te u odnosu na lasere, slab kapacitet penetracije svjetlosti kroz tkivo (44).



Slika 2. Koherentni izvor svjetlosti.



Slika 3. Nekoherentni izvor svjetlosti.

2.3. Primjena aPDT u stomatologiji

Ciljana mjesta aPDT-a su lokalne infekcije, poput onih koje se pojavljuju u usnoj šupljini. Mukoza, postekstrakcijska alveola, endodontska, supra- i subgingivna područja su lako dostupna za primjenu PS-a i osvjetljavanje, a u patogenezi bolesti su različite vrste mikroorganizama. To čini infekcije usne šupljine idealnom indikacijom za primjenu antimikrobne fotodinamske terapije.

U dentalnoj medicini se koristi za dezinfekciju dentina nakon mehaničkog uklanjanja karijesa i nekrotičnog tkiva iz korijenskih kanala.

U kirurgiji se uklanjanjem mikroorganizama iz alveole nakon ekstrakcije zuba omogućava brže i bezbolnije zarastanje, te smanjuje rizik od odbacivanja imedijatno postavljenog implantata.

Bolesti kože i sluznice pojavljuju se, na primjer, u obliku afti, herpesa, kandidijaze i dehiscijencije kuta usana. Pored bakterija, virusi i gljivice također igraju ključnu ulogu u

razvoju tih stanja. APDT djeluje na mikroorganizme, te omogućava brže zacjeljivanje rana i ima učinak ublažavanja boli.

2.3.1. Primjena aPDT u parodontologiji

Tijekom prošlih nekoliko desetljeća bilježi se porast provedenih i objavljenih istraživanja o primjeni fotodinamske metode u svrhu ubijanja parodontopatogenih bakterija, a svrha tih eksperimentalnih istraživanja je uvođenje aPDT-a u parodontologiju (45, 46, 47).

Ranih devedesetih godina prošlog stoljeća provedena su istraživanja o učinkovitosti redoks potencijala metilenskog modrila u redukciji bakterijskih kolonija u parodontnih pacijenata (48, 49).

2.3.1.1. *In vitro* studije

Nakon tih pozitivnih istraživanja, uslijedio je niz eksperimentalnih ispitivanja o fotosenzitirajućem svojstvu fotoaktivatora, odnosno njihovoj mogućnost stvaranja kisikovih radikala i atomarnog kisika u svrhu eliminacije parodontopatogena. U tablici 1 su prikazana istraživanja o primjeni različitih fotoaktivatora, primijenjenoj valnoj duljini svjetla, te mikroorganizmi na koje se djelovalo. Početna istraživanja su provedena *in vitro*, uzgajane su stanične kulture na hranjivim podlogama te se proučavala djelotvornost različitih kombinacija PS-a i izvora svjetla kako bi se evaluirala djelotvornost aPDT-a u ubijanju oralnih patogena.

Tablica 1. Istraživanja provedena *in vitro*.

PS	λnm	Mikroorganizmi	Literatura
<i>a) stanične kulture in vitro</i>			
TMO, MM, dihematoporf., ftalocijanin	633	P.g., A.a., F.n.	50
TMO	633	<i>Strept. sangius</i> vs stanice gingive	51
TMO	906	P.g., A.a., Pr.i.	4
chlorin-e6-polylysine	671	<i>A. viscosus</i> , P.g	52
TMO	560	P.g.	53
P.g., <i>Porphyromonas gingivalis</i> ; A.a., <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ; F.n., <i>Fusobacterium nucleatum</i> ; Pr.i., <i>Prevotella intermedia</i> ;			

Wilson i suradnici (50) su ispitali učinak četiri različita PS-a u ubijanju *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* i *Fusobacterium nucleatum*. 25 mikrograma/ml toluidinskog modrila O i metilenskog modrila iste koncentracije, bili su uspješni u ubijanju sve tri vrste bakterija. Dihematoporfirinski ester i aluminij disulfonirani ftalocijanin su se pokazali smrtonosnim samo za *P. gingivalis*.

Nakon što je *in vitro* istraživanjima dokazana eliminacija oralnih bakterija aPDT-om, uslijedilo je istraživanje o učinku aPDT-a na okolno tkivo domaćina (51). Dokazali su da koncentracije TMO-a koje su dovoljne za ubijanje *S. sanguis*, ne oštećuju humane keratinocyte i fibroblaste.

Haas i suradnici su dokazali eliminaciju *P. gingivalis*, *A. actinomycetemcomitans* i *Prevotella intermedia* (*P. intermedia*) s površina implantata primjenom TMO-a i diodnog lasera (4).

Soukos i suradnici su ispitali učinkovitost fotoaktivatora chlorin-e6-polylysin-a u aPDT-u (52), te su rezultati pokazali da kationski konjugat eliminira 99% *P. gingivalis* i >99% *A. viscosus*, uz održivost oralnog epitela. Dokazali su važnost pozitivnog naboja fotoaktivatora u smanjenju obje vrste bakterija.

Bhatti i suradnici su proveli *in vitro* istraživanje o raspodjeli TMO-a unutar *P. gingivalis* (53). Najveći postotak TMO-a je zabilježen u vanjskoj membrani (86.7%), a najmanji u DNA (0.3%). Dokazali su strukturnu promjenu proteina u vanjskoj membrani, oštećenje DNA i važnost atomarnog kisika u aPDT-u.

2.3.1.2. *In vivo* studije

Nakon početnih zadovoljavajućih rezultata dobivenih *in vitro* istraživanjima, početkom novog tisućljeća uslijedila su prva *in vivo* istraživanja na životinjama i ljudima. U tablici 2 su prikazana provedena istraživanja, korišteni PS, valne duljine te ciljni organizmi i kliničke dijagnoze na koje se terapija primjenjivala.

Tablica 2. Klinička istraživanja o primjeni aPDT-a.

PS	λnm	Mikroorganizmi	Literatura
<i>b) in situ: parodontitis i peri-implanitis</i>			
TMO	690	P.g., A.a., Pr.i., 30 pacijenata	54
TMO	690	P.g., A.a., Pr.i., 15 pacijenata	55
MM	Ga/Ars	Anaerobi, 10 pacijenata	56
TMO	830	liječenje upale, 40 implantata na psima	57
klorin e6, BLC1010	830	P.g., F.n., na psima	58
P.g., <i>Porphyromonas gingivalis</i> ; A.a., <i>Aggregatibacter actinomycetemcomitans</i> ; F.n., <i>Fusobacterium nucleatum</i> ; Pr.i., <i>Prevotella intermedia</i> ;			

U dvije studije (54,55), kultivacijom *A. actinomycetemcomitans*, *P. gingivalis* i *P. intermedia* iz sulkusa, prije i poslije aPDT-a, dokazali su statistički značajno smanjenje sve tri bakterije, ali bez potpune eliminacije. Zaključili su da je aPDT djelotvoran kao potporna terapija mehaničkoj terapiji.

Yilmaz i suradnici su ispitali klinički i mikrobiološki učinak aPDT-a kao samostalne i kao potporne terapije SRP-u (56). APDT je proveden 1., 2., 4., 7., 9. i 11. dan studije. Mjerili su krvarenje pri sondiranju (eng. *bleeding on probing*- BOP), dubinu sondiranja (eng. *pocket depth*- PD) i razinu kliničkog pričvrsta (eng. *clinical attachment level*- CAL). Potporni aPDT je uzrokovao statistički značajno smanjenje obligatnih anaeroba i kliničkih parametara, dok samostalni aPDT nije doveo do značajnih rezultata.

Shibli i suradnici su ispitali uspješnost aPDT-a u vođenoj regeneraciji kosti (GBR; eng. *guided bone regeneration*) pri liječenju peri-implantitisa, te su dokazali da aPDT dovodi do bolje reoseintegracije (57).

Istraživanje o uspješnosti klorina e6 i BLC1010 (Chlorin e6-2.5 *N*-methyl-d-glucamine) u eliminaciji *P. gingivalis* i *F. nucleatum* je dokazalo da aPDT dovodi do smanjenja kliničkih znakova upale, te da je klorin e6 uspješan u smanjenju kolonija *P. gingivalis*, a BLC 1010 u smanjenju *F. nucleatum* (58).

Sa zadovoljavajućim rezultatima početnih istraživanja povećava se interes za daljnje otkrivanje mogućnosti i unaprjeđenje aPDT-a. Od sredine prošlog desetljeća bilježi se nagli porast ispitivanja o uspješnosti aPDT-a u liječenju kroničnog i agresivnog parodontitisa.

2.3.1.3. Kronični parodontitis

Andersen i suradnici su proveli ispitivanje o uspješnosti aPDT-a kao potporne terapije u liječenju umjerenog i uznapredovalog kroničnog parodontitisa (59). Provedena je paralelna studija: pacijenti su podijeljeni u 3 grupe: 1. aPDT, 2. SRP, 3. SRP + aPDT, te su zaključili da se kombiniranom terapijom postižu bolji klinički rezultati nego samo mehaničkom, ali da aPDT bez prethodnog mehaničkog čišćenja nema značajnog učinka.

Braun sa svojim suradnicima također provodi istraživanje o uspješnosti aPDT-a kao potporne terapije, ali metodom nasuprotnih kvadranta (60). Nakon inicijalne mehaničke terapije, na ispitivanim kvadrantima je proveden aPDT. Zaključili su da je aPDT uspješna potporna terapija i da dovodi do boljih kliničkih rezultata (niže vrijednosti BOP-a, PD-a i CAL-a u odnosu na kontrolnu).

Chondros i suradnici su ispitali uspješnost potpornog aPDT-a u eliminaciji *A. actinomycetemcomitans*, crvenog kompleksa (*P. gingivalis*, *Treponema denticola*, *Tannerella forsythia*), narančastog kompleksa (*P. intermedia*, *Peptostreptococcus micros*, *F. nucleatum*, *Campylobacter rectus*) i zelenog kompleksa (*Eubacterium nodatum*, *Eikenella corrodens* i *Capnocytophaga species*) (61). Mikrobiološka analiza pokazala značajno smanjenje *T. denticola*, *F. nucleatum* i zelenog kompleksa u skupini s kombiniranom terapijom.

Lulic i suradnici su ispitali uspješnost višestruke primjene potpornog aPDT-a, provedenog 5 puta u dva tjedna (62). Zabilježili su statistički značajne razlike rezultata kontrolne i ispitivane skupine, te time dokazali učinkovitost ponavljane potpornog aPDT-a u liječenju kroničnog parodontitisa.

Campos sa svojim suradnicima provodi istraživanje o uspješnosti potpornog aPDT-a u terapiji rezidualnih džepova, te su zaključili da aPDT u kombinaciji sa SRP-om dovodi do značajnih kliničkih rezultata u liječenju rezidualnih džepova, u odnosu na samostalnu mehaničku terapiju, te da aPDT predstavlja obećavajuću mogućnost kontrole parodontoloških pacijenata (63).

Corrêa sa suradnicima provodi istraživanje o utjecaju potporne terapije aPDT-om na subgingivne mikroorganizme rezidualnih džepova (64). Dokazali su da aPDT u kombinaciji sa SRP-om značajno smanjuje *A. actinomycetemcomitans*.

Posljednja 4 istraživanja (Chondros, Lulic, Campos i Corrêa) pronašla su svoje mjesto u sistematičnom pregledu Xue-a i Zhao-a (65), objavljenom u ožujku ove godine. To je prvi sustavni pregled koji ocjenjuje uspješnost potpornog aPDT-a u liječenju rezidualnih džepova pacijenata s kroničnim parodontitisom.

2.3.1.4. Agresivni parodontitis

Agresivni parodontitis je specifična bolest u parodontologiji i možda najdelikatniji za istraživanja i liječenje. Njega karakterizira nagli početak i brz gubitak pričvrška i kosti koji često nisu proporcionalni količini prisutnih mekih i tvrdih naslaga. Najčešće se javlja kod pacijenata mlađih od 30 godina, koji su bez osobitosti u medicinskoj, a navode pozitivnu obiteljsku parodontološku anamnezu. Povišene su razine upalnih citokina koji aktiviraju osteoklaste, kao i koncentracija *A. actinomycetemcomitans* (66).

Zbog njegove nepredvidivosti, izazov je utemeljiti protokol inicijalnog liječenja i održavanja. S obzirom na to da je definiran kao infektivna bolest, terapija se temelji na eliminaciji infekcije i sprječavanju njene ponovne egzacerbacije. Nakon mehaničkog uklanjanja supra- i subgingivnih mekih i tvrdih naslaga, primjenjuje se dodatna antimikrobna terapija. Zbog već navedenih negativnih strana antibiotika u uvodnom poglavlju, jasno je zašto je kliničarima i znanstvenicima pažnju privukao aPDT. Tako se, istovremeno s istraživanjima o liječenju kroničnog parodontitisa, provode i istraživanja o djelovanju aPDT-a na agresivni parodontitis.

Jedno od prvih takvih ispitivanja proveo je Oliveira sa suradnicima, te su pomoću kliničkih mjerenja procijenili uspješnost aPDT-a u liječenju agresivnog parodontitisa (67). Na jednoj strani je proveden SRP, a na drugoj aPDT. Iako među skupinama nisu statistički dokazane razlike, brojčano, aPDT je doveo do boljih rezultata PD-a i CAL-a.

Novaes je sa svojim suradnicima ispitao učinkovitost aPDT-a s mikrobiološkog aspekta (13), te su uspjeli dokazati da aPDT i SRP djeluju na različite mikroorganizme. Dok je SRP bio uspješan u smanjenju bakterija crvenog kompleksa, aPDT je djelovao na *A. actinomycetemcomitans*. Zaključili su da bi se njihovom kombinacijom djelovalo na najpatogenije parodontopatogene.

Jedna studija je usporedila rezultate dobivene dodatnim liječenjem antibioticima s rezultatima dodatnog aPDT-a (68). Zanimalo ih je može li dva puta proveden aPDT biti alternativa antibioticima u liječenju agresivnog parodontitisa. Iako su obje skupine na reevaluaciji pokazale statistički značajne rezultate, antibioticima se postiglo značajnije smanjenje broja dubokih džepova i PD-a.

Moreira sa suradnicima provodi mikrobiološko istraživanje o uspješnosti ponavljano aPDT-a kao potporne terapije (69). APDT je proveden 4 puta. Rezultati su pokazali da ponavljan aPDT uzrokuje značajno smanjenje PD-a i CAL-a, kao i količinu *A. actinomycetemcomitans*, te narančastog i crvenog kompleksa.

Na našem fakultetu provedeno je kliničko istraživanje nagrađeno Rektorovom nagradom 2017. godine, te trenutno čeka publikaciju. Tema istraživanja je bila primjena aPDT-a kao potporne terapije u liječenju agresivnog parodontitisa. Zabilježeni su statistički značajna smanjenja PD-a i CAL-a, bez značajnih razlika među skupinama. Iako nije statistički dokazano, kvantitativnom analizom je uočeno smanjenje BOP-a u ispitivanoj skupini. Unatoč nedostatku statističke potvrde o djelotvornom učinku aPDT-a, ipak su analizom podataka, kliničkim pregledom, kao i subjektivnim dojmom sudionika, zaključili da aPDT kratkoročno može dovesti do boljih rezultata liječenja.

2.4. Trenutno dostupni sustavi u Hrvatskoj

Brojni svjetski proizvođači medicinske i stomatološke opreme su patentirali svoje sustave za antimikrobnu fotodinamsku terapiju. Svaki od njih dolazi s određenim fotoaktivatorom i izvorom svjetlosti jačine i valne duljine kompatibilnim sa fotoaktivatorom. U sustave su uključeni i sterilni nastavci za nanošenje fotoaktivatora na inficirano mjesto (parodontni džep, endodontski prostor, inflamirana mukoza) i sterilni vršak za laser, također prilagođen lokaciji primjene.

Jedan od takvih sustava je kanadski Periowave. U tom se sustavu kao fotoaktivator koristi metilensko modriko koje se aktivira diodnim laserom valne duljine 670 nm.

Drugi je njemački HELBO® Photodynamic Systems. Oni koriste phenotiazine chlorid kao fotoaktivator i diodni laser 660 nm valne duljine, te imaju laserske nastavke za parodontnu i endodontsku terapiju.

Njemačka tvrtka elexxio GmbH nudi svoj fotoaktivator, perio green® (indocijanin zelenilo) koji se koristi s jednim od njihovih diodnih ili Er:YAG lasera valne duljine 810 nm.

3. RASPRAVA

U istraživanjima o liječenju kroničnog parodontitisa, prije primjene aPDT-a svim pacijentima je provedena inicijalna parodontna terapija, te je samim time fotoaktivatoru omogućeno vezanje za veći broj bakterija iz uništenog biofilma.

Andersen (59), Braun (60), Lulic (62) i Campos (63) su dokazali uspješnost aPDT-a kao potporne terapije inicijalnoj parodontnoj terapiji i da njeno provođenje zajedno s ostalim anti-infektivnim postupcima konvencionalne terapije dovodi do boljih kliničkih rezultata.

Corrêa (64) i Chondros (61) u svojim istraživanjima nisu uspjeli dokazati značajno smanjenje *P. gingivalis*, ali je Chondros dokazao potpunu eliminaciju *A. actinomycetemcomitans*. Ti rezultati se ne podudaraju s rezultatima Dörtbudak-Kneissl-a (54) i Sigusch-a (58) koji su u svojim istraživanjima zabilježili statistički značajno smanjenje *P. gingivalis*.

S obzirom da se u navedenim istraživanjima razlikovao fotoaktivator koji su koristili u aPDT-u, možemo zaključiti da nisu svi fotoaktivatori jednako uspješni u eliminaciji mikroorganizama. Tako se rezultati Dörtbudak-Kneissl-a i Sigusch-a, koji su koristili TMO i chlorin e6, retrospektivno, podudaraju s rezultatima istraživanjima Haas-a (4), Bhatti-a (53), Wilson-a (50) i Soukos-a (52).

Rezultati kliničkih ispitivanja na pacijentima s agresivnim parodontitisom nisu dosljedni, što možemo pripisati nekoherentnosti do sad provedenih studija. Ispitivači u svojim studijama koriste različite materijale i metode u ispitivanju uspješnosti aPDT-a.

U jednoj studiji (13) su uspjeli dokazati da SRP i aPDT djeluju na različite mikroorganizme, dok je SRP bio uspješan u smanjenju bakterija crvenog kompleksa (*P. gingivalis*, *T. forsythia*, *T. denticola*), aPDT je djelovao na *A. actinomycetemcomitans* koji je dokazan u subgingivnom plaku rezidualnih džepova. Njihovom kombinacijom djeluje se na najpatogenije parodontopatogene.

Oliveira (67) je ispitao uspješnost aPDT-a usporedivši ga sa SRP-om. S obzirom na to da bakterijski subgingivni biofilm otežava ulaz fotoaktivatora i svjetla te tako smanjuje antimikrobnu učinkovitost fotodinamske terapije, a SRP i aPDT djeluju na različite patogene, rezultati ove studije bi vjerojatno bili puno značajniji da je provedena kombinirana terapija na ispitivanoj skupini.

Studija koja je uspoređivala aPDT s antibioticima (68), je dokazala značajan učinak ponavljanog aPDT-a kao potporne terapije, ali su antibiotici ipak postigli bolje rezultate. Mogući razlog tome je što antibiotici bivaju dopremljeni krvlju na mjesto infekcije, te se tako mogu naći u svim dijelovima parodontnog tkiva koje je opskrbljeno krvnim žilama. Samim time su prednosti pred fotoaktivatorom koji kada prođe epitelnu barijeru se nakuplja u površinskim dijelovima vezivnog tkiva, pa može djelovati samo na bakterije koje se tamo nalaze, bez učinka na dublje dijelove.

Jedna studija (69) je ispitala potporni učinak ponavljane antimikrobne fotodinamske terapije usporedivši je sa SRP-om. Konvencionalno liječenje agresivnog parodontitisa se temelji na mehaničkoj terapiji i potpornoj farmakološkoj, antibioticima i antisepticima. Rezultati ove studije koji govore u prilog aPDT-u nisu vjerodostojni jer samo mehanička terapija nije dostatna za kontrolu agresivnog parodontitisa zbog njegove kompleksne etiologije.

4. ZAKLJUČAK

U ovom diplomskom radu su obrađena samo neka od dostupnih istraživanja na temu antimikrobne fotodinamske terapije u parodontologiji.

Fotodinamska terapija je relativno nova metoda liječenja u stomatologiji i kao takvoj kliničarima i znanstvenicima su sve njene mogućnosti još uvijek nepoznanica.

S obzirom na to da SRP i aPDT djeluju na različite parodontopatogene, te da fotoaktivator ima sposobnost prolaska kroz epitelnu barijeru i kao takav može djelovati na bakterije koje se koloniziraju u vezivnom tkivu, aPDT može biti izvrsna potporna terapija inicijalnoj terapiji kroničnog parodontitisa.

APDT je pokazao potencijal i u terapiji agresivnog parodontitisa, ali do sad provedena istraživanja imaju različite metode ispitivanja njene uspješnosti, pa zbog tih različitosti teško je definitivno odrediti njen značaj u liječenju.

Zbog jednostavnosti uporabe, nepostojanja kontraindikacija za primjenu, načina djelovanja na koje mikroorganizmi ne mogu stvoriti rezistenciju te nedokazanih štetnih utjecaja na pacijente, antimikrobnu fotodinamsku terapiju kao pomoćno sredstvo u terapiji agresivnog i kroničnog parodontitisa trebalo bi nastaviti dalje istraživati na većim uzorcima.

5. LITERATURA

1. Petersen PE, Ogawa H. Strengthening the Prevention of Periodontal Disease: The WHO Approach. *J Periodontol*. 2005;76(12):2187-93.
2. Haubek D, Johansson A. Pathogenicity of the highly leukotoxic JP2 clone of *Aggregatibacter actinomycetemcomitans* and its geographic dissemination and role in aggressive periodontitis. *J Oral Microbiol* [Internet]. 2014 [cited 2017 Sep 5];6(1): [about 22 p]. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC4139931/>
3. Henderson B, Ward JM, Ready D. *Aggregatibacter* (*Actinobacillus*) *actinomycetemcomitans*: a triple A* periodontopathogen? *Periodontol* 2000. 2010;54(1):78-105.
4. Hass R, Dortbudak O, Mensdorff-Pouilly N, Mailath G. Elimination of bacteria on different implant surfaces through photosensitization and soft laser. An in vitro study. *Clinical Oral Implants Research*. 1997;8(4):249–547.
5. Van Winkelhoff AJ, Herrera D, Winkel EG, Delleman N, Vandenbroucke-Grauls CM., Sanz M. Antimicrobial resistance in the subgingival microflora of adult patients with periodontitis. A comparison between The Netherlands and Spain. *Journal of Clinical Periodontology*. 2000;27(2):79-86.
6. Darveau RP, Tanner A, Page RC. The microbial challenge in periodontitis, *Periodontology* 2000. 1997;14(1):12–32.
7. Ferres M, Haffajee AD, Allard K, Som S, Goodson JM, Socransky SS. Antibiotic resistance of subgingival species during and after antibiotic therapy. *J. Clin. Periodontol*. 2002;29(8):724–35.
8. Fosse T, Madinier I, Hannoun L, Giraud-Morin C, Hitzig C, Charbit Y, Ourang S. High prevalence of *cfxA* beta-lactamase in aminopenicillin-resistant *Prevotella* strains isolated from periodontal pockets. *Oral Microbiol Immunol*. 2002;17(2):85-8.
9. Eick S, Pfister W, Korn-Stemme S, Mägdefessel-Schmutzer U, Straube E. Pathogen and resistance spectrum of anaerobic bacteria in intraoral maxillofacial infections. *Mund-, Kiefer- und Gesichtschirurgie*. 2000;4(4):234–9.
10. Leikin JB, Paloucek FP. Chlorhexidine: a cationic bisbiguanide, membrane active drug in periodontal medicine, structure-advantages and associated adverse effects, a brief communication. *Wjpps*. 2015;4(7)370-92.
11. Okano M, Nomura M, Hata S, et al. Anaphylactic symptoms due to chlorhexidine gluconate. *Archives of Dermatology*. 1989;125(1):50–2.

12. Denton GW. Chlorhexidine. In: Block SS, editor. Disinfection, Sterilization, and Preservation. 5th ed. London: Lippincott Williams & Wilkins; 2000. p. 321-36.
13. Novaes AB Jr, Schwartz-Filho HO, de Oliveira RR, Feres M, Sato S, Figueiredo LC. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: microbiological profile. *Lasers Med Sci.* 2012;27(2):389-95.
14. Rajesh S, Koshi E, Philip K, Mohan A. Antimicrobial photodynamic therapy: An overview. *J Indian Soc Periodontol.* 2011;15(4):323-7.
15. Grünewald H. Nobel Lectures: Physiology or medicine 1901–1921. 1st ed. New York: Elsevier Publishing Company; 1967. 563 p.
16. Dougherty TJ, Marcus SL. Photodynamic therapy. *Eur J Cancer.* 1992;28(A):1734–42.
17. Lall S. Photodynamic Therapy: Light Activated Antimicrobial Agents. *Int Poster J Dent Oral Med.* 2012;14(1):Poster 587.
18. Sharman WM, Allen CM, Van Lier JE. Photodynamic therapeutics: Basic principles and clinical applications. *Drug Discovery Today.* 1999;4(11):507-17.
19. Moan J, Berg K. The photodegradation of porphyrins in cells can be used to estimate the lifetime of singlet oxygen. *nPhotochemistry Photobiology.* 1991;53(4):549–53.
20. Singh H, Khurana H, Singh H, Singh M. Photodynamic therapy: Truly a marriage between a drug and a light. *Muller J Med Sci Res.* 2014;5(1):48-55.
21. Ochsner M. Photophysical and photobiological processes in the photodynamic therapy of tumours. *J. Photochem. Photobiol. B.* 1997;39(1):1-18.
22. Buchko GW, Wagner JR, Cadet J, Raoul S, Weinfeld M. Methylene blue-mediated photooxidation of 7,8-dihydro-8-oxo-2'-deoxyguanosine. *Biochim Biophys Acta.* 1995;1263(1):17-24.
23. Kömerik N, Wilson M, Poole S. The effect of photodynamic action on two virulence factors of gram-negative bacteria. *Photochem Photobiol.* 2000;72(5):676-80.
24. Paschoal MA, Tonon CC, Spolidório DM, Bagnato VS, Giusti JS, Santos-Pinto L. Photodynamic potential of curcumin and blue LED against *Streptococcus mutans* in a planktonic culture. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2013;10(3):313-9.
25. Sharma SK, Dai T, Kharkwal GB, et al. Drug Discovery of Antimicrobial Photosensitizers Using Animal Models. *Current pharmaceutical design.* 2011;17(13):1303-19.

26. Castano AP, Demidova TN, Hamblin MR. Mechanisms in photodynamic therapy: part one—photosensitizers, photochemistry and cellular localization. *Photodiagnosis and photodynamic therapy*. 2004;1(4):279-93.
27. Detty MR, Gibson SL, Wagner SJ. Current clinical and preclinical photosensitizers for use in photodynamic therapy. *J Med Chem*. 2004;47(16):3897-915.
28. Minnock A, Vernon DI, Schofield J, Griffiths J, Parish JH, Brown ST. Photoinactivation of bacteria. Use of a cationic water-soluble zinc phthalocyanine to photoinactivate both gram-negative and gram-positive bacteria. *J Photochem Photobiol B*. 1996;32(3):159–64
29. Merchat M, Bertolini G, Giacomini P, Villanueva A, Jori G. Meso-substituted cationic porphyrins as efficient photosensitizers of gram-positive and gram-negative bacteria. *J Photochem Photobiol B*. 1996;32(3):153–7.
30. Malik Z, Ladan H, Nitzan Y. Photodynamic inactivation of Gram-negative bacteria: problems and possible solutions. *J Photochem Photobiol B*. 1992;14(3):262–6
31. Salton MRJ, Kim KS. Structure. In: Baron S, editor. *Medical Microbiology*. 4th ed. Galveston: University of Texas Medical Branch at Galveston; 1996. p. 1273.
32. Dai T, Fuchs BB, Coleman JJ, Prates RA, Astrakas C, St Denis TG et al. Concepts and principles of photodynamic therapy as an alternative antifungal discovery platform. *Front Microbiol*. 2012;3:120.
33. Vzorov AN, Dixon DW, Trommel JS, Marzilli LG, Compans RW. Inactivation of human immunodeficiency virus type 1 by porphyrins. *Antimicrob. Agents Chemother*. 2002;46(12):3917-25.
34. Carrera ET, Dias HB, Corbi SCT, Marcantonio RAC, Bernardi ACA, Bagnato VS et al. The application of antimicrobial photodynamic therapy (aPDT) in dentistry: a critical review. *Laser Physics* [Internet]. 2016 [cited 2017 Sep 10];26(12):[about 13 p.]. Available from: <http://iopscience.iop.org/article/10.1088/1054-660X/26/12/123001>
35. Wilson M, Dobson J, Harvey W. Sensitization of oral bacteria to killing by low-power laser radiation *Curr. Microbiol*. 1992;25(2)77–81.
36. Allaker RP, Douglas CW. Novel anti-microbial therapies for dental plaque-related diseases. *Int. J. Antimicrob. Agents*. 2009;33(1)8–13.
37. Souza RC, Junqueira JC, Rossoni RD, Pereira CA, Munin E, Jorge AO. Comparison of the photodynamic fungicidal efficacy of methylene blue, toluidine blue, malachite

- green and low-power laser irradiation alone against *C. Albicans*. *Lasers Med. Sci.* 2010;25(3):385–9.
38. Dovigo LN, Pavarina AC, Carmello JC, Machado AL, Brunetti IL, Bagnato VS. Susceptibility of clinical isolates of *Candida* to photodynamic effects of curcumin. *Lasers Surg. Med.* 2011;43(9):927–34.
39. Shrestha A, Hamblin MR, Kishen A. Photoactivated rose bengal functionalized chitosan nanoparticles produce antibacterial/biofilm activity and stabilize dentin-collagen *Nanomedicine*. 2014;10(3):491–501.
40. Rosa LP, da Silva FC. Antimicrobial Photodynamic Therapy: A New Therapeutic Option to Combat Infections. *J Med Microb Diagn.* 2014;3(4):158.
41. Paschoal MA, Lin M, Santos-Pinto L, Duarte S. Photodynamic antimicrobial chemotherapy on *Streptococcus mutans* using curcumin and toluidine blue activated by a novel LED device. *Lasers Med Sci.* 2015;30(2):885-90.
42. Marmur ES, Schmults CD, Goldberg DJ. A review of laser and photodynamic therapy for the treatment of nonmelanoma skin cancer. *Dermatologic Surgery.* 2004;30(2):264-71.
43. Opel DR, Hagstrom E, Pace AK, et al. Light-emitting Diodes: A Brief Review and Clinical Experience. *The Journal of Clinical and Aesthetic Dermatology.* 2015;8(6):36-44.
44. Brancalion L, Moseley H. Lasers and non-laser light sources for photodynamic therapy. *Lasers Med Sci.* 2002;17(3):173-86.
45. Poolerand JP, Valenzano DP. Dye-sensitized photodynamic inactivation of cells. *Med Phys.* 1981;8(5):614-28.
46. Wainwright M. Photodynamic antimicrobial chemotherapy (PACT). *J Antimicrob Chemother.* 1998;42(1):13-28.
47. Stojiljkovic I, Evavold BD, Kumar V. Antimicrobial properties of porphyrins. *Expert Opin Investig Drugs.* 2001;10(2):309-20.
48. M. Wilson, M. Gibson, D. Strahan, W. Harvey. A preliminary evaluation of the use of a redox agent in the treatment of chronic periodontitis. *J. Periodontal Res.* 1992;27(5):522–7.
49. Ower PC, Ciantar M, Newman HN, Wilson M, Bulman JS. The effects on chronic periodontitis of a subgingivally-placed redox agent in a slow release device. *J Clin Periodontol.* 1995;22(6):494-500.

50. Wilson M, Dobson J, Sarkar S. Sensitization of periodontopathogenic bacteria to killing by light from a low-power laser. *Oral Microbiol Immunol.* 1993;8(3):182-7.
51. Soukos NS, Wilson M, Burns T, Speight PM. Photodynamic effects of toluidine blue on human oral keratinocytes and fibroblasts and *Streptococcus sanguis* evaluated in vitro. *Lasers Surg Med.* 1996;18(3):253-9.
52. Soukos NS, Ximenez-Fyvie LA, Hamblin MR, Socransky SS, Hasan T. Targeted antimicrobial photochemotherapy. *Antimicrob Agents Chemother.* 1998;42(10):2595-601.
53. Bhatti M, MacRobert A, Meghji S, Henderson B, Wilson M. A study of the uptake of toluidine blue O by *Porphyromonas gingivalis* and the mechanism of lethal photosensitisation. *Photochem. Photobiol.* 1998;68(3):370-6.
54. Dörtbudak-Kneissl E, Dörtbudak O, Bernhart D, Haas R, Mailath-Pokorny G. Die photodynamische Therapie zur Keimreduktion bei parodontalen Erkrankungen. *Stomatologie* 97. 2000;1:1-4.
55. Dörtbudak O, Haas R, Bernhart T, Mailath-Pokorny G. Lethal photosensitization for decontamination of implant surfaces in the treatment of peri-implantitis. *Clin Oral Implants Res.* 2001;12(2):104-8.
56. Yilmaz S, Kuru B, Kuru L, Noyan U, Argun D, Kadir T. Effect of gallium arsenide diode laser on human periodontal disease: a microbiological and clinical study. *Lasers Surg Med.* 2002;30(1):60-6.
57. Shibli JA, Martins MC, Ribeiro FS, Garcia VG, Nociti FH Jr, Marcantonio E Jr. Lethal photosensitization and guided bone regeneration in treatment of peri-implantitis: an experimental study in dogs. *Clin Oral Implants Res.* 2006;17(3):273-81.
58. Sigusch BW, Pfitzner A, Albrecht V, Glockmann E. Efficacy of photodynamic therapy on inflammatory signs and two selected periodontopathogenic species in a beagle dog model. *J Periodontol.* 2005;76(7):1100-5.
59. Andersen R, Loebel N, Hammond D, Wilson M. Treatment of periodontal disease by photodisinfection compared to scaling and root planing. *J Clin Dent* 2007;18(2):34-8.
60. Braun A, Dehn C, Krause F, Jepsen S. Short-term clinical effects of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy in periodontal treatment: a randomized clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2008;35(10):877-84.
61. Chondros P, Nikolidakis D, Christodoulides N, Rössler R, Gutknecht N, Sculean A. Photodynamic therapy as adjunct to non-surgical periodontal treatment in patients on

- periodontal maintenance: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2009;24(5):681-8.
62. Lulic M, Leiggener Görög I, Salvi GE, Ramseier CA, Mattheos N, Lang NP. One-year outcomes of repeated adjunctive photodynamic therapy during periodontal maintenance: a proof-of-principle randomized-controlled clinical trial. *J Clin Periodontol.* 2009;36(8):661-6.
63. Campos GN, Pimentel SP, Ribeiro FV, Casarin RC, Cirano FR, Saraceni CH, Casati MZ. The adjunctive effect of photodynamic therapy for residual pockets in single-rooted teeth: a randomized controlled clinical trial. *Lasers Med Sci.* 2013;28(1):317-24.
64. Corrêa MG, Oliveira DH, Saraceni CH, Ribeiro FV, Pimentel SP, Cirano FR, Casarin RC. Short-term microbiological effects of photodynamic therapy in non-surgical periodontal treatment of residual pockets: A split-mouth RCT. *Lasers Surg Med.* 2016;48(10):944-50.
65. Xue D, Zhao Y. Clinical effectiveness of adjunctive antimicrobial photodynamic therapy for residual pockets during supportive periodontal therapy: A systematic review and meta-analysis. *Photodiagnosis Photodyn Ther.* 2017 Mar;17:127-33.
66. Lindhe J, Karring T, Lang NP, editors. *Clinical Periodontology and Implant Dentistry.* 3rd ed. Copenhagen: Munksgaard; 1997.
67. de Oliveira RR, Schwartz-Filho HO, Novaes AB Jr, Taba M Jr. Antimicrobial photodynamic therapy in the non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a preliminary randomized controlled clinical study. *J Periodontol.* 2007;78(6):965-73.
68. Arweiler NB, Pietruska M, Pietruski J, Skurska A, Dolińska E, Heumann C. Six-month results following treatment of aggressive periodontitis with antimicrobial photodynamic therapy or amoxicillin and metronidazole. *Clin Oral Investig.* 2014;18(9):2129–35.
69. Moreira AL, Novaes AB Jr, Grisi MF, Taba M Jr, Souza SL, Palioto DB et al. Antimicrobial photodynamic therapy as an adjunct to non-surgical treatment of aggressive periodontitis: a split-mouth randomized controlled trial. *J Periodontol.* 2015;86(3):376-86.

6. ŽIVOTOPIS

Sandra Veličan, rođena 06.09.1991. godine u Zagrebu. Završava VII. gimnaziju, nakon toga 2011. godine upisuje Stomatološki fakultet na Sveučilištu u Zagrebu. Na fakultetu sudjeluje u studentskoj sekciji za parodontologiju. Na 1. Studentskom kongresu studenata dentalne medicine aktivno sudjeluje kao predavač i voditelj radionice pod temom Antimikrobna fotodinamska terapija u parodontologiji. Pod mentorstvom dr.sc. Domagoja Vražića provodi kliničko istraživanje na Zavodu za parodontologiju koje je 2017. godine nagrađeno Rektorovom nagradom. Uz redovno školovanje, pohađa školu dramske umjetnosti u zagrebačkom kazalištu mladih i na Zavodu za pretkliničku fiksnu protetiku dvije godine obavlja dužnosti studenta demonstratora.